

TOXOCARA IgG CELISA

INTENDED USE AND PRINCIPLE OF THE TEST

This test is designed to detect and measure antibodies to *Toxocara canis* excretory-secretory (ES) antigen produced during infection in humans. The Toxocara IgG CELISA is a solid phase enzyme immunoassay. Antibody is bound by the *Toxocara* ES antigen coated on the inner surface of the test strip. Peroxidase-conjugated antibody to human IgG is added and reacts with bound antibody. A chromogenic substrate for peroxidase is added. If antibody to *Toxocara* is present there is a reaction which results in the development of a blue colour, which is in proportion to the serum level of the antibody. Addition of stopping solution changes the blue colour to yellow.

CONTENTS OF THE KIT

TXMW	Celisa Plate – 1x96 wells - (single use only)	2 plates
CONTROL +	Positive Control	0.2mL
CONTROL −	Negative Control	0.2mL
TXPO	Enzyme Conjugate (200x)	0.2mL
TXPT	PBS/Tween (20x)	110mL
TXSC	Substrate Chromogen (TMB) (20x)	1.5mL
TXSB	Substrate Buffer	24mL
TXSS	Stopping Solution	12mL

Store all components at 2-8°C.Expiry dates are clearly marked on each kit component and on the box. Expiry dates do not change once opened.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Micropipettes and tips; clean glassware or plastic containers for solutions; humid chamber; ELISA washer; and Spectrophotometer to read absorbances at a single wavelength of 450nm.

PRECAUTIONS

For in vitro diagnostic use only. Reagents should not be used after the expiry date shown on the label. If protective packaging is damaged, contact your local distributor and ask for a replacement. Do not mix reagents from different kits. Thimerosal preservative added to some components is a poison. Exercise caution when handling these components. The stopping solution is corrosive. Avoid contact with skin, eyes and mucous membranes. Dispense all reagents with care to avoid cross contamination of wells. Avoid exposure of the substrate to light. Treat all clinical and control material as though potentially infectious and dispose of in accordance with local operating regulations. For further information, please refer to the Material Safety Data Sheet.

INSTRUCTIONS FOR USE

Preparation of Wash Buffer

If crystals are present, warm the concentrate to dissolve. For each microplate, add 50mL PBS-Tween concentrate TXPT to 950mL of distilled water. Label the bottle WASH BUFFER. Store at 2-8°C.

Preparation of Samples

Collect patient blood samples by standard venipuncture procedure. The test may be used with serum or plasma. The serum or plasma should be stored below -10°C if the analysis is delayed. Prepare a 1/100 dilution of the positive control CONTROL + , the negative control CONTROL − and the test (patient specimen) sera samples in WASH BUFFER, ensuring proper mixing. Record the position of each diluted SAMPLE on a work sheet.

Assay Procedure

1. Bring all reagents to room temperature (18-25 ^{o}C) before use.
2. Prepare WASH BUFFER (see Preparation of Wash Buffer)
3. Remove required number of TXMW strips. Reseal the foil bag containing unused microwell strips immediately with tape.
4. Pipette 100µL of the SAMPLE, CONTROL + and CONTROL −, into individual microwells. Include two positive and two negatives in each assay run. Cover and incubate for one (1) hour at room temperature (RT) in a humid chamber.
5. In the last 10 minutes of the incubation period, prepare the working strength CONJUGATE. Add 5µL of Enzyme Conjugate TXPO to 995µL of WASH BUFFER and mix thoroughly (allow 1mL per strip of 8 wells).
6. Wash the wells preferably using an automatic plate/strip washer or manually as follows:
   - Empty contents from the wells. Refill with the WASH BUFFER.
   - Repeat this process a further three (3) times. After the fourth wash, bang inverted wells dry on absorbent tissue.
   - NB: take care when flicking out plates, hold side of frame firmly to hold strips in place.
7. Add 100µL of CONJUGATE to each well. Incubate for one (1) hour at RT in a humid chamber.
8. In the last 10 minutes of the incubation period, prepare the working strength SUBSTRATE. Add 50µL of Substrate Chromogen TXSC to 950µL of Substrate Buffer TXSB and mix thoroughly (allow 1mL per strip of 8 wells). The stability of the solution is 30 minutes.
9. Repeat washing as in step 6.
10. Add 100µL of fresh SUBSTRATE and incubate in the dark (covered) at room temperature for 15 minutes.
11. Add 50µL of Stopping Solution TXSS. Tap the plate to mix.
12. Read the results visually or in a spectrophotometer at 450nm.

READING AND INTERPRETATION OF RESULTS AND DIAGNOSIS

Photometrically

It is optimal to use a dual beam ELISA reader. Blank machine against the well designated as the blank. Within 30 minutes of stopping the reaction read absorbance of all wells including all the controls at 450nm on an ELISA reader.

For the test results to be accepted the controls must read as follows:

Control	O.D Value (450nm)
Negative Control	< 0.25
Positive Control	> 1.0

Test results should be interpreted as follows:

O.D Value (450nm)	Interpretation
< 0.25	NEGATIVE specimen
0.25 - < 0.5	Contains antibodies - However, level is lower than generally accepted significant level
0.5 - 1.0	Significant antibody level - Indicative of past infection or a current low level infection
> 1.0	Strong POSITIVE result - Indicative of recent clinical Toxocariasis

Visual Reading
Results can also be read visually. Note colour of the specimen wells and compare with the colour of the negative control. If the colour, read visually, of a specimen well is above that of the negative control, then the specimen contains antibody.

A positive result usually indicates that the donor is or has been infected with *Toxocara canis*. It does not necessarily mean that the donor has clinical Toxocariasis. The test may be negative early in the infection.

WASTE DISPOSAL
Dispose of any unused components as biohazardous waste. For more information, please refer to the MSDS.

SENSITIVITY, SPECIFICITY, & OTHER DATA ON THE TOXOCARA CELISA
Refer to summary table at end of insert. All data on the Toxocara CELISA can be obtained in the product information sheet. Please ask your local distributor or contact Cellabs.

INDEMNITY NOTICE
Modifications or changes made in the recommended procedure may affect the stated or implied claims. A positive or negative result does not preclude the presence of other underlying causative agents. Cellabs and its agents and distributors shall not be liable for damages under these circumstances



Français

TOXOCARA IgG CELISA

PRINCIPE DU TEST ET INDICATIONS D'EMPLOI
Ce test est conçu pour détecter et mesurer les anticorps contre l'antigène excretory-secretory (ES) de *Toxocara canis* produit chez l'homme lors d'une infection. Le test Toxocara IgG CELISA est un dosage immuno enzymatique en phase solide. Les anticorps se lient aux antigènes ES de *Toxocara* qui couvrent la paroi interne des micropuits. Un anticorps conjugué peroxydé anti-IgG humaine est ajouté et réagit avec l'anticorps immobilisé. On ajoute alors un substrat chromogène pour la peroxydase. Si les anticorps de *Toxocara* sont présents, il se produit une réaction qui résulte en une couleur bleue, proportionnelle à la quantité d'anticorps contenu dans l'échantillon testé. L'addition de solution d'arrêt converti la couleur du bleu au jaune.

COMPOSITION DU COFFRET

TXMW	Plaque CELISA – 1x96 puits (usage unique)	2 plaques
CONTROL +	Contrôle positif	0.2mL
CONTROL −	Contrôle négatif	0.2mL
TXPO	Conjugué enzymatique (200x)	0.2mL
TXPT	PBS/Tween (20x)	110mL
TXSC	Substrat chromogène (TMB) (20x)	1.5mL
TXSB	Tampon du substrat	24mL
TXSS	Solution d'arrêt	12mL

Conserver tous les composants à 2-8°C. Les dates de péremption sont clairement marquées sur chaque composant et sur le coffret de la trousse. L'ouverture n'altère pas les dates de péremption.

MATERIELS REQUIS NON FOURNIS
Micropipettes et embouts; verrerie propre ou récipients plastiques pour solutions; eau distillée; chambre humide; laveur ELISA ou bouteille de rinçage; spectrophotomètre capable de lire à 450 nm.

PRECAUTIONS
Produit à usage uniquement *in vitro*. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Si l'emballage est abîmé, contactez votre fournisseur local pour un remplacement. Ne pas mélanger les réactifs de coffrets différents. Certains réactifs contiennent du Thimerosal comme préservatif, qui est un poison. Manipulez ces réactifs avec soin. La solution d'arrêt est corrosive. Evitez tout contact avec la peau, les yeux ou les membranes muqueuses. Ajouter les réactifs en évitant tout risque de contamination croisée des puits. Eviter d'exposer le substrat à la lumière. Les échantillons cliniques et les contrôles doivent être considérés comme potentiellement infectieux et jetés selon les procédures en vigueur. Consultez la fiche de sécurité du produit (notice MSDS) pour plus amples informations.

INSTRUCTIONS D'EMPLOI

Préparation du tampon de lavage
Si des cristaux apparaissent dans le concentré, réchauffer le réactif pour les dissoudre. Pour chaque plaque de micropuits, ajouter 50mL de concentré PBS/Tween TXPT à 950mL d'eau distillée. Libeller la bouteille WASH BUFFER. Conserver à 2-8°C.

Préparation des échantillons
Collecter les spécimens sanguins par ponction veineuse courante. Le dosage peut se faire sur plasma ou sérum. Conserver les échantillons de plasma ou sérum à -10°C si l'analyse est retardée. Préparer une dilution au 1/100 du contrôle positif CONTROL +, du contrôle négatif CONTROL − et des échantillons patients à l'aide du WASH BUFFER et bien mélanger. Repérer la position des échantillons dilués SAMPLE sur la feuille de travail.

Mode D'emploi

1. Ramener tous les réactifs à température ambiante (18-25°C) avant l'emploi.
2. Préparer le WASH BUFFER (voir Préparation du Tampon de Lavage).
3. Retirer le nombre requis de micropuits TXMW. Immédiatement refermer le sac contenant les micropuits restants avec du ruban adhésif.
4. Ajouter 100µL de SAMPLE, de CONTROL + et de CONTROL − dans leurs micropuits individuels. Inclure deux contrôles positifs et deux contrôles négatifs dans chaque série de dosage. Couvrir et incuber une (1) heure à température ambiante en chambre humide.
5. Dans les 10 dernières minutes de l'incubation, préparer la solution de travail de CONJUGATE. Ajouter 5µL de Conjugué enzymatique TXPO à 995µL de WASH BUFFER et mélanger vigoureusement (prévoir 1mL de solution de travail par barrette de 8 micropuits).
6. Laver les micropuits au laveur automatique ou manuellement comme suit :
   - Vider le contenu des micropuits. Remplir les micropuits de WASH BUFFER.
   - Répéter l'opération trois (3) fois. Vider le contenu des puits après le quatrième lavage.
   - NB : opérez cette étape avec précaution, en serrant le cadre de la plaque à micropuits pour éviter qu'ils ne s'en délogent.
7. Ajouter 100µL de CONJUGATE dans chaque puits. Incuber une (1) heure à température ambiante en chambre humide.
8. Dans les 10 dernières minutes de l'incubation, préparer la solution de travail de SUBSTRATE. Ajouter 50µL de Substrat chromogène TXSC à 950µL de Tampon de substrat TXSB et mélanger vigoureusement (prévoir 1 mL de solution de travail par barrette de 8 micropuits). Cette solution de travail est stable pendant 30 minutes.
9. Répéter le lavage comme à l'étape 6.
10. Ajouter 100µL de SUBSTRATE frais et incuber (couvert) à l'obscurité pendant 15 minutes à température ambiante.
11. Ajouter 50µL de solution d'arrêt TXSS. Taper pour mélanger.
12. Lire les résultats visuellement ou au spectrophotomètre à 450nm.

LECTURE, INTERPRETATION DES RESULTATS ET DIAGNOSTIQUE

Lecture spectrophotométrique

Il est préférable d'utiliser un spectrophotomètre à double longueur d'onde. Calibrer la machine contre un blanc désigné. Lire les résultats dans un spectrophotomètre à 450 nm ou un lecteur à microplaque ELISA dans les 30 minutes suivant l'addition de la solution d'arrêt. Pour être valides, les valeurs de contrôles négatifs doivent être comme suit :

Contrôle	Valeur D.O. (450 nm)
Contrôle négatif	< 0.25
Contrôle positif	> 1.0

Les résultats sont interprétés comme suit :

Valeur D.O. (450 nm)	Interprétation
< 0.25	Spécimen NEGATIF
0.25 - < 0.5	Contient des anticorps – Néanmoins, le titre est inférieur au seuil significatif généralement accepté
0.5 - 1.0	Titre significatif d'anticorps – Indique une infection passée ou récente et modérée
> 1.0	Résultat fortement POSITIF – Indique une Toxocarose récente

Lecture visuelle

Les résultats peuvent être lus visuellement. Observer l'intensité couleur des échantillons en comparaison à celle du contrôle négatif. Si un échantillon présente une couleur visuellement clairement supérieure à celle du contrôle négatif, cet échantillon contient des anticorps.

Un résultat positif indique que le donneur est ou a été infecte par *Toxocara canis.* Cela ne signifie pas nécessairement qu'il présente les symptômes cliniques de la Toxocarose. Le test peut être négatif au début d'une infection.

DECHETS

Jetez tout composant inutilisé dans la poubelle aux déchets biologiques. Consultez la fiche de sécurité du produit (notice MSDS) pour plus amples informations.

SENSIBILITE, SPECIFICITE ET AUTRES DONNEES DU TEST

Referez-vous au tableau récapitulatif en fin de notice. Toutes les données sur le test Toxocara IgG CELISA sont sur la fiche technique du produit. Contactez Cellabs ou votre distributeur pour l'obtenir.

NOTICE D'INDEMNITE

Toute modification ou variation du protocole d'emploi recommandé peut affecter les performances annoncées du produit. Un résultat positif ou négatif n'exclue pas la présence d'autres agents causatifs sous-jacents. Cellabs et ses agents et distributeurs ne sont légalement responsables d'aucun dommage dans de telles circonstances.



Deutsch

TOXOCARA IgG CELISA

VERWENDUNGSZWECK UND TESTPRINZIP

Dieser Test dient dem Nachweis und der Messung von Antikörpern gegen das *Toxocara canis*-ES-Antigen (Exkrete/Sekrete), die bei einer Infektion vom Menschen gebildet werden. Toxocara IgG CELISA ist ein Festphasen-Enzym-Immunoassay. Der Antikörper wird durch das *Toxocara*-ES-Antigen gebunden, mit dem die Innenseite des Teststreifens beschichtet ist. Ein mit Peroxidase konjugierter Antikörper zu menschlichem IgG wird hinzugefügt und reagiert mit dem gebundenen Antikörper. Anschließend wird ein Chromogen-Substrat zur Peroxidase hinzugefügt. Wenn Antikörper gegen *Toxocara* vorhanden sind, entsteht eine Reaktion, die zur Bildung einer Blaufärbung führt, deren Intensität proportional zum Antikörpergehalt des Serums ist. Durch Zugabe der Stopplösung wechselt die Blaufärbung zu Gelb.

PACKUNGSINHALT

TXMW	Celisa Platte – 1 x 96 Vertiefungen - (nur zum einmaligen Gebrauch)	2 Platten
CONTROL +	Positivkontrolle	0,2 mL
CONTROL -	Negativkontrolle	0,2 mL
TXPO	Enzymkonjugat (200x)	0,2 mL
TXPT	Waschpuffer PBS/Tween (20x)	110 mL
TXSC	Substrat-Chromogen (TMB) (20x)	1,5 mL
TXSB	Substratpuffer	24 mL
TXSS	Stopplösung	12 mL

Alle Komponenten bei 2 bis 8 °C lagern. Das Verfalldatum ist auf allen Komponenten des Kits und auf der Verpackung deutlich angegeben und ändert sich nicht nach dem Öffnen.

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE MATERIALIEN

Mikropipetten und Spitzen, saubere Glas- oder Kunststoffbehälter für Lösungen, feuchte Kammer, ELISA-Waschgerät sowie Spektrophotometer zum Ablesen der OD-Werte bei einer einzelnen Wellenlänge von 450 nm.

VORKEHRUNGEN

Nur für die In-vitro-Diagnostik. Reagenzien dürfen nach dem auf dem Etikett angegebenen Verfalldatum nicht mehr verwendet werden. Falls die Schutzverpackung beschädigt ist, bitte bei unserem Vertreiber Ersatz anfordern. Reagenzien unterschiedlicher Kits dürfen nicht zusammen verwendet werden. Das Thimerosal-Konservierungsmittel, das zu manchen Komponenten hinzugefügt wurde, ist giftig. Die Reagenzien müssen daher vorsichtig gehandhabt werden. Die Stopplösung ist ätzend. Kontakt mit der Haut, den Augen und den Schleimhäuten vermeiden. Alle Reagenzien sorgfältig pipettieren, um eine Kreuzkontamination der Mikrotiterplattenvertiefungen zu vermeiden. Das Substrat sollte nicht dem Licht ausgesetzt werden. Alle klinischen Materialien und Kontrollmaterialien sind als potenziell infektiös zu behandeln und müssen gemäß den örtlichen gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden. Für weitere Informationen siehe Sicherheitsdatenblätter (MSDS).

GEBRAUCHSANLEITUNG

Ansetzen des Waschpuffers

Befinden sich Kristalle im Konzentrat, dieses erwärmen, bis sie sich aufgelöst haben. Für je eine Mikrotiterplatte 50mL PBS-Tween-Konzentrat TXPT zu 950mL destilliertem Wasser hinzugeben. In eine Flasche füllen, diese mit WASH BUFFER beschriften und bei 2 bis 8 °C lagern.

Probenvorbereitung

Blutproben der Patienten durch herkömmliche Venenpunktion gewinnen. Der Test kann mit Serum oder Plasma durchgeführt werden. Das Serum bzw. Plasma muss bei unter -10 °C gelagert werden, wenn die Analyse nicht unverzüglich vorgenommen wird. Eine 1/100-Verdünnung der Positivkontrolle CONTROL +, der Negativkontrolle CONTROL - und der zu testenden Serumproben (Patientenproben) in WASH BUFFER herstellen; auf gute Vermischung achten. Die Position jeder verdünnten SAMPLE auf einem Arbeitsblatt notieren.

Testdurchführung

1. Vor Gebrauch alle Reagenzien auf Raumtemperatur (18 bis 25 °C) bringen.
2. WASH BUFFER vorbereiten (siehe Ansetzen des Waschpuffers).
3. Benötigte Anzahl von TXMW-Streifen herausnehmen. Folienbeutel mit nicht benötigten Mikrotiter-Streifen unverzüglich wieder mit Klebeband verschließen.
4. 100µL SAMPLE, TXPC und TXNC in die einzelnen Vertiefungen pipettieren. Bei jedem Testansatz sollten auch zwei Positiv- und zwei Negativkontrollen verwendet werden. Abdecken und eine (1) Stunde lang bei Raumtemperatur (RT) in einer feuchten Kammer inkubieren.

5. In den letzten 10 Minuten der Inkubationszeit CONJUGATE in gebrauchsfertiger Verdünnung vorbereiten. 5µL des Enzym-Kongujats TXPO zu 995µL WASH BUFFER hinzugeben und gut mischen (pro Streifen mit 8 Vertiefungen 1mL Lösung herstellen).
6. Die Streifen vorzugsweise mit einem Waschautomaten waschen, ansonsten wie folgt von Hand:
   - Den Inhalt der Vertiefungen ausleeren und diese mit WASH BUFFER füllen.
   - Diesen Vorgang weitere drei (3) Mal durchführen. Nach dem vierten Waschgang Titerplatten mit nach unten zeigenden Vertiefungen auf saugfähiger Unterlage ausklopfen.
   - Vorsicht: Die Streifen können beim Ausklopfen aus der Halterung herausfallen. Rahmen daher seitlich festhalten.
7. 100µL CONJUGATE in jede Vertiefung pipettieren. Eine (1) Stunde bei Raumtemperatur (RT) in einer feuchten Kammer inkubieren.
8. In den letzten 10 Minuten der Inkubationszeit SUBSTRATE in gebrauchsfertiger Verdünnung vorbereiten. 50µL des Substrat-Chromogens TXSC zu 950µL Substratpuffer TXSB hinzugeben und gut mischen (pro Streifen mit 8 Vertiefungen 1mL Lösung herstellen). Die Lösung ist 30 Minuten lang stabil.
9. Den Waschvorgang aus Schritt 6 wiederholen.
10. 100µL frisches SUBSTRATE in jede Vertiefung pipettieren, dann im Dunkeln (zugedeckt) 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
11. 50µL Stopplösung TXSS hinzugeben. Zum Vermischen Platte vorsichtig aufklopfen.
12. Die Ergebnisse visuell oder mit dem Spektrophotometer bei 450 nm ablesen.

ABLESEN UND INTERPRETATION DER ERGEBNISSE SOWIE DIAGNOSE

Photometrisch

Optimal ist die Verwendung eines ELISA-Zweistrahl-Messgeräts. Nullwert des Geräts gegen leere Titerplattenvertiefung abgleichen Innerhalb von 30 Minuten nach Reaktionsende OD-Wert aller Vertiefungen einschließlich der Kontrollen bei 450 nm auf einem ELISA-Messgerät ermitteln.

Für gültige Testergebnisse müssen für die Kontrollen folgende Werte erzielt worden sein:

Kontrolle	OD-Wert (450 nm)
Negativkontrolle	<0,25
Positivkontrolle	>1,0

Die Ergebnisse sind wie folgt zu interpretieren:

OD-Wert (450 nm)	Interpretation
<0,25	NEGATIVE Probe
0,25 - <0,5	Enthält Antikörper – Gehalt ist jedoch niedriger als der üblicherweise akzeptierte signifikante Gehalt
0,5 – 1,0	Signifikanter Gehalt an Antikörpern – Zeichen für eine frühere Infektion oder eine aktuelle Infektion mit niedrigem Gehalt
>1,0	Stark POSITIVES Ergebnis – Zeichen für eine aktuelle klinische Toxocara-Infektion

Visuelle Bestimmung

Die Ergebnisse können auch visuell bestimmt werden. Dazu Farbe der Probenvertiefungen mit der Farbe der Negativkontrolle vergleichen. Ist die visuell abgelesene Farbe einer Probenvertiefung intensiver als die der Negativkontrolle, enthält die Probe Antikörper.

Ein positives Ergebnis zeigt üblicherweise an, dass der Spender der Blutprobe mit *Toxocara canis* infiziert ist oder war. Dies bedeutend nicht zwangsläufig, dass der Spender an einer klinischen Toxocara-Infektion leidet. In einem frühen Stadium der Infektion kann der Test negativ sein.

ENTSORGUNG

Alle nicht benötigten Komponenten müssen als biogefährdender Müll entsorgt werden. Für weitere Informationen siehe Sicherheitsdatenblätter (MSDS).

SENSITIVITÄT, SPEZIFITÄT UND SONSTIGE DATEN ZU TOXOCARA CELISA

Siehe zusammenfassende Tabelle am Ende dieser Anleitung. Alle Daten zu Toxocara CELISA können der Produktinformation entnommen werden. Bitte fragen Sie Ihren Vertreiber oder wenden Sie sich an Cellabs.

HAFTUNGSAUSSCHLUSS

Änderungen oder Modifikationen des empfohlenen Durchführungsverfahrens können die gemachten oder gefolgerten Angaben beeinflussen. Ein positives oder negatives Ergebnis schließt nicht andere zugrunde liegende Krankheiten aus. Cellabs und seine Vertreiber sind für Folgen derartiger Konstellationen nicht haftbar.



Español

TOXOCARA IgG CELISA

APLICACIONES Y PRINCIPIO DEL TEST

Este test se ha diseñado para detectar y cuantificar los anticuerpos frente al antígeno excretor – secretor (ES) de *Toxocara canis* que se produce durante la infección en humanos. El Toxocara CELISA IgG es un enzimoinmunoensayo en fase sólida. Los anticuerpos se unen al antígeno ES del *Toxocara* que recubren la superficie interior de las tiras del test. Se añade un anticuerpo anti IgG humana conjugado con peroxidasa que reacciona con los anticuerpos unidos al antígeno. A continuación, se añade un substrato cromogénico de la peroxidasa. Si el anticuerpo frente a *Toxocara* se encuentra presente, se produce una reacción que conduce a la aparición de un color azul, el cual es proporcional al nivel de anticuerpos en el suero. Al añadirle la solución de parada, el color azul se convierte en amarillo.

COMPONENTES DEL KIT

TXMW	Placa Celisa –1x96 pocillos - (para un sólo uso)	2 placas
CONTROL +	Control Positivo	0.2mL
CONTROL –	Control Negativo	0.2mL
TXPO	Conjugado del enzima (200x)	0.2mL
TXPT	PBS/Tween (20x)	110mL
TXSC	Substrato cromogénico (TMB) (20x)	1.5mL
TXSB	Solución de substrato	24mL
TXSS	Solución de parada	12mL

Todos los componentes deben de almacenarse entre 2 y 8º C. Las fechas de caducidad están indicadas específicamente en cada componente del kit y en la caja. Las fechas de caducidad no varían tras la apertura.

MATERIALES REQUERIDOS QUE NO SE PROPORCIONAN

Micropipetas y puntas; recipientes de vidrio o de plástico limpios para las soluciones; cámara húmeda; lavador de ELISA; Espectrofotómetro para medir las absorbancias a una longitud de onda única de 450 nm.

PRECAUCIONES

Para utilización exclusiva en el diagnóstico in vitro. No utilizar después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Si se observase que el envase exterior está dañado, contactar con su distribuidor local y solicitar un kit nuevo. No mezclar reactivos de diferentes kits. El conservante timerosal añadido a algunos componentes es un veneno. La manipulación de estos componentes debe realizarse con precaución. La solución de parada es corrosiva. Evitar el contacto con la piel, ojos y mucosas. Añadir todos los reactivos con cuidado para evitar la contaminación cruzada entre unos pocillos y otros. Evitar exponer el substrato a la luz. Tratar todas las muestras clínicas y los controles como material potencialmente infeccioso y eliminar de acuerdo con la normativa local. Para más información al respecto, consultar la ficha de seguridad (FDS).

INSTRUCCIONES DE USO

Preparación de la solución de lavado

Si se observa cristalización en el concentrado, disolver por calentamiento. Para cada microplaca añadir 50mL de PBS-Tween concentrado TXPT a 950mL de agua destilada. Etiquetar el frasco como WASH BUFFER y almacenar de 2 a 8°C.

Preparación de las muestras

Extraer las muestras de la sangre de los pacientes por venopunción standard. El test se puede llevar a cabo tanto con suero como con plasma. El suero o el plasma deberían almacenarse a –10º C si el análisis no se lleva a cabo de inmediato. Preparar una disolución 1/100 del control positivo CONTROL +, del control negativo CONTROL - y de las muestras de suero del pacientes que se van a someter a ensayo en WASH BUFFER, asegurándose de que se mezclan adecuadamente. Rotular la posición de cada SAMPLE diluida en la hoja con el esquema de la placa.

Procedimiento del ensayo

1. Permitir que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su uso.
2. Preparar la WASH BUFFER (ver Preparación de la Solución de Lavado).
3. Retirar el número necesario de tiras TXMW. Volver a sellar la bolsa de aluminio que contiene las tiras de los micropocillos sin usar inmediatamente con el autocierre.
4. Añadir 100µL de SAMPLE, CONTROL + y CONTROL - a los micropocillos individuales. Incluir dos positivos y dos negativos cada vez que se realice el ensayo. Cubrir e incubar durante una (1) hora a temperatura ambiente (TA) en una cámara húmeda.
5. En los últimos 10 minutos del periodo de incubación, preparar el CONJUGATE a la dilución de trabajo. Añadir 5µL del Conjugado del enzima TXPO a 995µL de WASH BUFFER y mezclar completamente (preparar 1mL para cada tira de 8 pocillos).
6. Lavar los pocillos, preferiblemente utilizando un lavador automático de placas, o de forma manual según se indica a continuación:
   - Vaciar el contenido de los pocillos. Rellenar con WASH BUFFER.
   - Repetir este proceso tres (3) veces más. Después del cuatro lavado, colocar los pocillos en posición invertida sobre un tejido absorbente.
   - NB: Al voltear las placas; tener la precaución de sujetar firmemente el lado del soporte para mantener las tiras en su lugar.
7. Añadir 100µL de CONJUGATE a cada pocillo. Incubar durante una (1) hora a temperatura ambiente (TA) en una cámara húmeda.
8. En los últimos 10 minutos del periodo de incubación, preparar el SUBSTRATE a la dilución de trabajo. Añadir 50µL del Substrato cromogénico TXSC a 950µL de Solución de substrato TXSB y mezclar completamente (preparar 1mL para cada tira de 8 pocillos). La estabilidad de la solución es de 30 minutos.
9. Repetir el lavado como en el paso 6.
10. Añadir 100µL de SUBSTRATE recién preparado e incubar en oscuridad (tapado) a temperatura ambiente durante 15 minutos.
11. Añadir 50µL de la solución de parada TXSS. Tapar la placa para mezclar.
12. Leer los resultados visualmente o en espectrofotómetro a 450nm.

LECTURA E INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS Y DIAGNOSTICO

Fotométricamente

Lo mejor es utilizar un lector ELISA con longitud de onda dual. Calibrar el aparato con el pocillo designado como blanco. Dentro de los siguientes 30 minutos a la parada de la reacción, hay que leer la absorbancia de todos los pocillos, incluyendo todos los controles a 450nm en un lector ELISA.

Para que los resultados del ensayo resulten aceptables, los controles deben mostrar los siguientes resultados:

Control	Valor O.D (450nm)
Control negativo	< 0.25
Control positivo	> 1.0

Los resultados del test deben interpretarse de la siguiente forma:

Valor O.D (450nm)	Interpretación
< 0.25	Muestra NEGATIVA
0.25 - < 0.5	Contiene anticuerpos – Sin embargo, el nivel es inferior al de los niveles comúnmente aceptados como significativos
0.5 - 1.0	Nivel significativo de anticuerpos- Indicativo de una infección pasada o de una infección reciente de baja intensidad
>1.0	Resultado POSITIVO intenso – Indicativo de una Toxocariasis clínica reciente.

Visualmente

Los resultados pueden apreciarse también visualmente. Observar la intensidad del color de los pocillos de la muestra y compararlos con el color del control negativo. Si el color, de manera visual, de un pocillo de muestra está por encima del control negativo, se considera que la muestra contiene anticuerpos.

Normalmente, un control positivo significa que el donante está o ha estado infectado por *Toxocara canis*. Esto no significa que, desde un punto de vista clínico, el paciente padezcaToxocariasis. El test puede dar negativo en una infección temprana.

ELIMINACIÓN DE LOS RESIDUOS

Los componentes sin usar deben eliminarse como material de riesgo biológico. Para más información, consultar la ficha de datos de seguridad, FDS.

SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, Y OTROS DATOS ACERCA DEL TOXOCARA IgG CELISA

Consultar la tabla resumen al final de este manual de instrucciones. Todos los datos del Toxocara IgG CELISA pueden obtenerse en la ficha técnica del producto. Para más información, consultar con su distribuidor local o contactar con Cellabs.

INFORMACIÓN ACERCA DE POSIBLES INDEMNIZACIONES

Las modificaciones o cambios realizados sobre el procedimiento recomendado pueden afectar a las posibles reclamaciones tanto directa como indirectamente. Un resultado positivo o negativo no excluye la presencia de otros agentes etiológicos subyacentes. Ni Cellabs ni sus agentes o distribuidores serán legalmente responsables por daños producidos bajo estas circunstancias.



Portuguese

TOXOCARA IgG CELISA

UTILIZAÇÃO E PRINCÍPIO DO TESTE

Este teste destina-se à detecção e quantificação dos anticorpos contra o antigénio *Toxocara canis* excretório-secretório (ES) produzido durante as infecções, nos seres humanos. O Toxocara IgG CELISA é um teste imunoenzimático de fase sólida. Os anticorpos ligam-se aos antigénios *Toxocara* ES que revestem os poços da microplaca. Posteriormente, é adicionado o conjugado, marcado com Peroxidase anti-IgG humana, que reage com o anticorpo fixado nos poços. Em seguida, é adicionado um substrato cromogénio. A presença de anticorpos anti-*Toxocara* é verificada através de uma reacção que gera uma cor azul cuja intensidade é proporcional à quantidade de anticorpos presentes nos soros. Ao adicionar a solução de paragem, a cor muda de azul para amarelo.

CONTEÚDO DO KIT

TXMW	Placas Celisa - 1x96 poços - (para uma utilização)	2 placas
CONTROL +	Controlo Positivo	0.2mL
CONTROL −	Controlo Negativo	0.2mL
TXPO	Conjugado Enzimático (200x)	0.2mL
TXPT	Tampão PBS/Tween (20x)	110mL
TXSC	Substrato Cromogénio (TMB) (20x)	1.5mL
TXSB	Tampão Substrato	24mL
TXSS	Solução de Paragem	12mL

Conservar a 2-8ºC. As datas de validade estão referidas em cada componente do kit e na embalagem. Os prazos de validade não se alteram com a abertura dos componentes.

MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO

Micropipetas com pontas descartáveis, recipientes para as soluções, água destilada; câmara húmida, Lavador ELISA, Espectrofotómetro capaz de ler absorvâncias, a 450 nm.

PRECAUÇÕES

Apenas para diagnóstico *in* vitro. Não utilizar após ter terminado o prazo de validade. Se a embalagem estiver danificada, contactar o representante local e pedir a substituição por uma nova. Não misturar componentes de kits diferentes. O conservante de Timerosal, adicionado a determinados componentes, é tóxico. Cuidado ao manusear estes componentes. A solução de paragem é corrosiva. Evitar o contacto com a pele, olhos e mucosas. Pipetar os reagentes com cuidado para evitar contaminação dos poços. Evitar exposição do substrato à luz. O controlo positivo mostrou-se não-infeccioso em cultura de tecidos, contudo deve sempre ser manuseada como sendo potencialmente infeccioso. Todo o material analítico e de controlo deve ser tratado como potencialmente infeccioso e deverá ser descartado segundo as normas em vigor. Consultar a ficha de segurança do produto (MSDS) para mais informações.

INSTRUÇÕES DE USO

Preparação do Tampão de Lavagem

Se surgirem cristais nas soluções concentradas, aquecer para dissolvê- los. Por cada microplaca adicionar 50mL de PBS-Tween concentrado TXPT a 950mL de água destilada. Colocar rótulo WASH BUFFER para identificar o frasco e conservar a 2-8ºC.

Preparação das Amostras

Colher as amostras de sangue através de venipunctura. O teste pode ser utilizado com soro ou plasma. Estes devem ser conservados abaixo dos -10ºC caso haja um atraso na execução da análise. Preparar uma diluição de 1/100 do controlo positivo CONTROL +, do controlo negativo CONTROL − e da amostra do doente, em WASH BUFFER, misturar bem. Fazer o registo das respectivas posições de cada diluição da SAMPLE.

Execução do Teste

1. Conduzir os reagentes à temperatura ambiente (18-25 ºC) antes de usar.
2. Preparar WASH BUFFER (ver em ' Preparação do Tampão de Lavagem')
3. Retirar o número necessário de tiras TXMW. Voltar a selar o invólucro de alumínio de onde estas foram retiradas.
4. Pipetar 100µL da SAMPLE, CONTROL + e CONTROL −, em poços individuais. Pipetando em duplicado os controlos positivos e negativos em cada série. Cobrir e incubar durante uma (1) hora à temperatura ambiente (18ºC – 25ºC) em câmara húmida.
5. Durante os últimos 10 minutos do período de incubação, preparar o CONJUGATE. Adicionar 5µL de Conjugado Enzimático TXPO a 995µL de WASH BUFFER e misturar bem (1mL por cada tira de 8 poços).
6. Lavar os poços, de preferência com um lavador automático de microplacas ou manualmente da seguinte forma:
   - Aspirar os conteúdos dos poços. Voltar a encher com WASH BUFFER.
   - Repetir esta operação quatro (4) vezes. Inverter a placa e bater contra papel absorvente no fim da quarta lavagem.
   - NB: Segurar bem na placa ao inverter, evitando destacar as tiras.
7. Adicionar 100µL de CONJUGATE a cada poço. Incubar durante uma (1) hora à temperatura ambiente em câmara húmida.
8. Durante os últimos dez minutos da incubação, preparar o SUBSTRATE. Adicionar 50 µL de Substrato Cromogénio TXSC a 950µL de Tampão Substrato TXSB e mistura (1 mL por cada tira de 8 poços). A solução mantém-se estável durante 30 minutos.
9. Repetir a lavagem. Consultar o passo 6.
10. Adicionar 100µL de SUBSTRATE preparado no momento, e incubar no escuro (coberto) à temperatura ambiente durante 15 minutos.
11. Adicionar 50µL da Solução de Paragem TXSS. Bater de leve na microplaca para misturar.
12. Ler os resultados visualmente ou através de um espectrofotometro, a 450nm

LEITURAS E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS E DIAGNÓSTICO

Leitura Fotométrica

Recomenda-se a utilização de um leitor ELISA de dupla banda. Ler o "branco" do poço designado como tal. Até 30 minutos após a paragem da reacção, fazer a leitura das absorvâncias de todos os poços, incluindo os dos controlos, a 450nm num leitor de ELISA.

Para os resultados do teste serem validados, os controlos devem apresentar os seguintes valores:

Controlo	Valor D.O. (450nm)
Controlo Negativo	< 0.25
Controlo Positivo	> 1.0

Os resultados dos testes devem ser interpretados da seguinte forma:

Valor D.O. (450nm)	Interpretação
< 0.25	Amostra NEGATIVA
0.25 - < 0.5	Contém anticorpos - Contudo, com níveis inferiores ao do nível geralmente aceite como sendo significativo.
0.5 - 1.0	Nível significativo de anticorpos - Indica uma infecção, anterior ou actual, de nível baixo.
> 1.0	Resultado Fortemente POSITIVO - Indica uma Toxocaríase recente.

Leitura Visual

Os resultados podem ser lidos visualmente. Observar e comparar a cor dos poços que contêm as amostras com a cor do controlo negativo. A amostra contém anticorpos caso a cor do poço da amostra seja mais intensa do que a cor do controlo negativo.

Um resultado positivo indica que o dador está, ou já esteve, infectado com *Toxocara canis*. O que não significa que o dador seja portador de uma Toxocaríase. O teste poderá ser negativo nos estádios iniciais da infecção.

ELIMINAÇÃO DOS RESIDUOS

Deitar fora qualquer componente que tenha sido utilizado como material de risco biológico. Para mais informações consulte a MSDS.

SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE, & OUTROS DADOS DO TOXOCARA CELISA

Consultar sumário no final do folheto de instruções. Todos os dados sobre o Toxocara CELISA podem ser consultados na folha de informação do produto. Contacte o distribuidor ou contacte a Cellabs.

NOTA SOBRE POSSIVEIS INDEMINIZAÇÕES

As modificações realizadas aparte do protocolo recomendado podem afectar os resultados. Um resultado positivo ou negativo não exclui a presença de outros agentes causadores subjacentes. A Cellabs e os seus distribuidores não serão legalmente responsáveis por qualquer dano nestas circunstâncias.

FIGURE 1 TOXOCARA CELISA DIAGRAM FOR USE

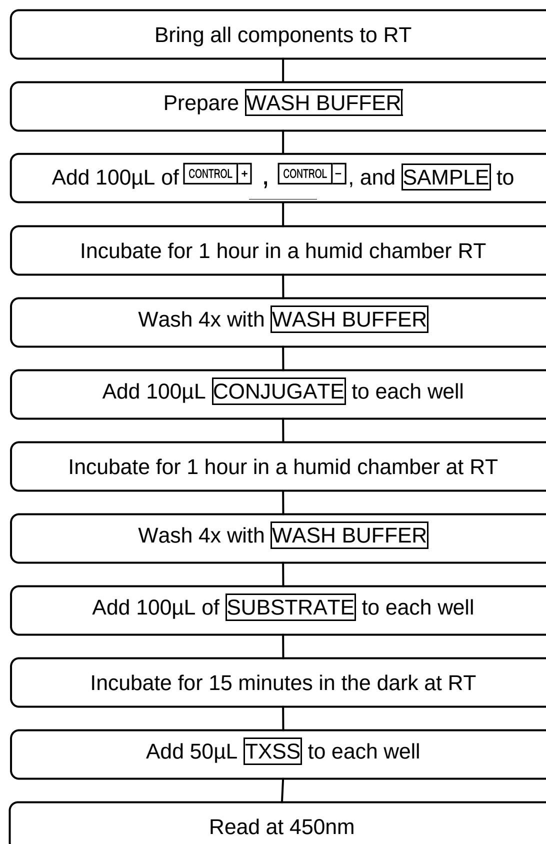


TABLE 1: SENSITIVITY, SPECIFICITY, & OTHER DATA ON THE TOXOCARA IgG CELISA
TABLEAU 1: SENSIBILITE, SPECIFICITE ET AUTRES DONNEES DU TEST TOXOCARA IgG CELISA
TABELLE 1: SENSITIVITÄT, SPEZIFITÄT UND ANDERE DATEN ZUM TOXOCARA IgG CELISA
TABLA 1: SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD Y OTROS DATOS DEL TOXOCARA IgG CELISA
TABELA 1: SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE E OUTROS DADOS DO TOXOCARA IgG CELISA

Trial Essai Versuch Prueba Teste	**Sensitivity** Sensibilité Sensitivität Sensibilidad Sensibilidade	**Specificity** Spécificité Spezifität Especificidad Especificidade	**Repeatability** Répétabilité Wiederholpräzision Repetibilidad Repetição	**Reproducibility** Reproductibilité Reproduzierbarkeit Reproducibilidad Reprodutibilidade
A			Positive CV = 7.11% Negative CV = 9.36%	Positive CV = 7.24% Negative CV = 9.49%
B	90%	94%		

EXPLANATION OF SYMBOLS

Consult Instructions for Use
IVD — *In Vitro* Diagnostic Medical Device
2°C 8°C — Temperature Limitation
LOT — Batch
CONTROL + — Control Positive
CONTROL − — Control Negative
Use By/Expiration Date
Do Not Re-use

Cellabs Pty Ltd
Unit 7, 27 Dale Street (PO Box 421)
Brookvale, NSW 2100 Australia
Tel: +61 2 9905 0133 Fax: +61 2 9905 6426
Web: http://www.cellabs.com.au
Email: sales@cellabs.com.au

EC REP
WMDE
Bergerweg 18
6085 AT Horn
The Netherlands

Insert Version: en fr de es pt
LT3.12
01 February 2011

0 0843